

機関番号：13901

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21112002

研究課題名(和文)原索動物ホヤ類におけるアロ認識機構の解明

研究課題名(英文)Elucidating the allorecognition mechanisms in ascidians (prochordates)

研究代表者

澤田 均(SAWADA, Hitoshi)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60158946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 162,200,000円、(間接経費) 48,660,000円

研究成果の概要(和文)：原索動物ホヤ類は雌雄同体で、自家受精する自家和種と、自家受精しない自家不和種が存在する。自家不和種であるカタユレイボヤ等のホヤでは、どのようにして自己非自己認識(アロ認識)を行い、自家受精を回避しているのか、その解明が本研究の目的である。本研究により、カタユレイボヤのアロ認識分子(卵側v-Themis-A, -B, -B2と精子側s-Themis-A, -B, -B2)が同定された。生化学的、遺伝学的解析から、3ペアの卵側リガンド分子を精子側レセプターが認識し全て自己分子と認識すると、精子へのCa<sup>2+</sup>流入が起こり、卵膜から離脱して自家受精を防いでいることが判明した。

研究成果の概要(英文)：Ascidians (Protochordates) are hermaphrodities, which release sperm and eggs almost simultaneously. Several species, including *Ciona intestinalis*, show self-incompatibility to avoid self-fertilization. We revealed that three pairs of egg-side ligands on the vitelline-coat (v-Themis-A, -B, and -B2) and cognate sperm-side receptors (s-Themis-A, -B, and -B2) are responsible for self/non-self recognition (allorecognition) during fertilization in *C. intestinalis* by genetic analyses, proteomic analyses, and genome-editing techniques. We also found that when *C. intestinalis* spermatozoon binds to the vitelline coat of a self-egg, Ca<sup>2+</sup> influx into sperm takes place, resulting in the detachment of sperm from the vitelline coat. Since s-Themis-B/B2 contain a cation channel domain in their C-terminal regions, s-Themis-B/B2 may play a key role in self-recognition during fertilization of the ascidian *C. intestinalis*.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：細胞生物学

キーワード：ホヤ 受精 精子 卵 自家不和合性 自己非自己認識

1. 研究開始当初の背景

原索動物ホヤ類は雌雄同体で、精子と卵をほぼ同時に海水中に放出するが、多くの種で自家受精は回避されている。この性質を自家不和合性という。獲得免疫系をもたない下等脊索動物がどのようにして自己と非自己を識別しているかは動物学における長年の大きな謎であった。著名な遺伝学者である T. H. Morgan は、精子の卵黄膜への結合段階で自己非自己認識（アロ認識）が行われることを見いだしているが、詳細は未だに不明である。本計画代表は、ゲノム概要配列が解読されているカタコウレイボヤを用いてポジショナルクローニングを行ない、2つの独立遺伝子座がアロ認識に関わることと、その作用機構の概要を明らかにした。

実際の実験では、卵を酸処理して自家受精させ、得られる子供同士の交配実験を行うと、ある個体の精子は別の個体の卵を受精させるが、その逆はできないという一方向性不稔という現象が見られる（図1）。その理由として Morgan は、自家不稔因子が、精子は片親の遺伝子から、卵は両親の遺伝子から発現しているためである、と解釈した。この一方向性不稔が見られる場合、卵提供個体はその座位においてヘテロであり、精子提供個体はホモであると考えられる（図1）。その理論に合致する遺伝子領域を染色体上の70個のマーカー遺伝子に絞ってPCRで探索し、候補領域を絞り込み、その中から卵黄膜で発現しているタンパク質（v-Themis）と精巣で発現している多形に富む遺伝子（s-Themis）の発見に至った。

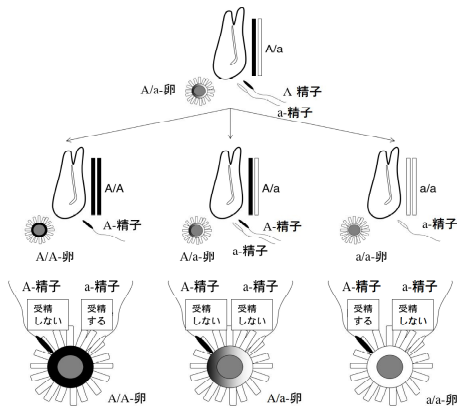


図1 カタコウレイボヤの交配実験における一方向性不稔精子は片親の遺伝子を、卵は両親の遺伝子を発現するので、自家受精のF1個体同士で交配実験を行うと、ヘテロ個体(A/a)の精子がホモ個体(A/A)やa/a)の卵を受精させるが、逆にホモ個体(A/A)やa/a)の精子がヘテロ個体(A/a)の卵を受精させず、受精の成立に方向性がみられる。

これら2つの自家不和合性決定座位には、非常に多型に富むポリシスチン-1様イオンチャネル（多発性嚢胞腎の原因遺伝子）とフィブリノーゲン様分子のペアが共通して含

まれる。前者は精子側の認識分子（s-Themisと命名）で、後者は卵黄膜上の認識分子（v-Themis）である。興味深いことに、後者の遺伝子は前者の遺伝子の第1イントロンに逆向きにコードされており、これらの遺伝子ペアは強固なパートナー関係を保ったまま、次世代に受け継がれる（図2）。精子膜に存在するs-Themisは、卵黄膜上のv-Themisを自己と認識すると受精が阻害されるしくみになっている。また、このペアは2組存在し、両ペアとも自己と識別されないと、自己と認識されないの、厳格なアロ認識を行うことができることを、遺伝学実験の結果が示している（図2）。この遺伝様式は、被子植物に見られる自家不和合性遺伝子の作用機構と酷似しており、収斂進化の好例といえる。

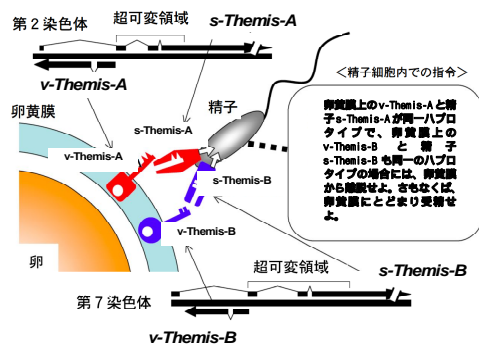


図2 カタコウレイボヤにおける s/v-Themis-A, s/v-Themis-B を介した自家不和合性様式の仮説

2. 研究の目的

本研究では従来の研究を発展させて、s-Themis-A とv-Themis-A のペア、s-Themis-B と v-Themis-B のペアがカタコウレイボヤの受精におけるアロ認識に真に関わっているか否かを明らかにすること、s/v-Themis 遺伝子のアレル（ハプロタイプ）の解析、精子が卵黄膜に結合後におこる自己認識シグナル、s/v-Themis 以外にアロ認識に関わる分子、s/v-Themis がカタコウレイボヤ以外のホヤにも存在するか否か、について焦点を絞って研究を行った。

また、動植物共通のアロ認識機構という視点からの解析も目指した。特に、s/v-Themis ホモログがカタコウレイボヤ以外のホヤや、ホヤ以外の動植物のアロ認識機構に関わるか否かについても検討した。

3. 研究の方法

(1) s/v-Themis 分子のアロ認識における役割の解明: s-Themis-A/B の精子における存在の検証: s-Themis が精巣で発現していることは確認されているが、精子細胞膜上での存在は確認されていない。そこで、精子細胞膜画分を用いて SDS-PAGE を行い、そのゲル切片をトリプシン消化後 LCMS/MS 分析を行い、その存在確認を行った。また、特異抗体

を用いた免疫染色によっても局在解析を試みた。

v-Themis と s-Themis のタンパク質間相互作用解析：遺伝学的解析結果から、同一ハプロタイプの v-Themis を s-Themis が認識すると考えられるが、タンパク質間の結合が自己と非自己由来の分子間でどの程度異なるのかを検討した。方法としては、大腸菌および無細胞系で発現させたタンパク質間相互作用の解析や、酵母ツーハイブリッド法を利用した解析を検討した。

Themis の機能解析：s/v-Themis-A, -B, -B2 のどのペアがアロ認識に関わるかを解析する目的で、自家受精により得られた個体同士を掛け合わせて F<sub>2</sub> 個体を作製し、A, B, B2 のアレルが同一か否かを確認しつつ、掛け合わせ実験を行い、他家不和合性を示すかを検討した。一方、s/v-Themis-A, -B, -B2 の機能を直接的に知ることを目的として、TALEN 法により s/v-Themis-A, B, B2 の遺伝子が欠失した変異体を作成した。そして、これが自家受精するか否かを検討した。

(2) Themis 遺伝子の対立遺伝子 (アレル) の多型解析：v-Themis と s-Themis の超可変領域における個体間の相同性は 30% 以下と非常に低いが、v-Themis と s-Themis が真にペアを形成しているか否か、また共進化しているか否かについても検討した。

(3) 自己認識後のシグナル伝達機構：カタウレイボヤでは、自己認識後に精子が卵黄膜から離脱する。ここでは、その精子細胞内シグナル伝達機構を明らかにする。PKD1 様チャンネルは Ca<sup>2+</sup>チャンネルであるが、精子に自己由来の卵黄膜を相互作用させると、精子細胞内で Ca<sup>2+</sup>の濃度変化が生じるか否かを、蛍光顕微鏡を用いたライブイメージング技術により検討した。

(4) Themis オルソログの探索と動植物共通のアロ認識機構：s/v-Themis のオルソログが他のホヤにも存在するか否か、またホヤ以外の動植物にも存在するか否かをゲノムデータベース検索や PCR により探索した。アロ認識に関わるか否かの機能解析も検討した。

#### 4. 研究成果

(1) s/v-Themis 分子のアロ認識における役割の解明：s-Themis-A と s-Themis-B の存在を確認するために様々な方法で可溶化して SDS-PAGE を行い、LC/MS/MS で解析を行ったが、s-Themis の消化断片は検出されなかった。s-Themis は膜貫通ドメインが多いため、可溶化が困難なことに起因すると思われる。そこで、s-Themis-A と -B の REJ 領域に対する特異抗体を作製し、局在性解析を行った。その結果、s-Themis-A も -B も精子頭部先端と尾部に存在することが示された。

次いで相互作用解析を行った。s-Themis-A の超可変領域と v-Themis-A を組換えタンパ

ク質として大腸菌で発現させ、プルダウンアッセイによりタンパク質間相互作用の解析を行ったが、不溶化し、相互作用解析には不向きであった。また、無細胞系タンパク質合成システムで発現させたタンパク質間での相互作用解析も行ったが、検討した s-Themis の超可変領域だけでは、特異的結合は確認されなかった。これは、s-Themis と v-Themis との相互作用に s-Themis の N 末端側の広い領域を必要とする可能性や、s/v-Themis-A と s/v-Themis-B の両者の相互作用が同時に必要な可能性などが考えられる。さらに、糖鎖等の翻訳後修飾が必要な可能性も考えられる。酵母ツーハイブリッド法によりタンパク質相互作用について解析したが、検討した条件下では、アレル特異的相互作用は確認されなかった。

s/v-Themis-A と -B 以外の類似遺伝子の探索を行った。その結果、s/v-Themis-A 遺伝子から 2200 kbp 離れた位置に s/v-Themis-A2 と命名した類似遺伝子が存在し、s/v-Themis-B 遺伝子近傍 (60kbp) に s/v-Themis-B2 遺伝子が存在することが判明した。s/v-Themis-A2 に関しては、多型がなく終始コドンが現れる点やプロテオーム解析においても v-Themis-A2 が卵黄膜上で確認されないことから、偽遺伝子であると考えられる。一方、s/v-Themis-B2 は個体間で多型に富み卵黄膜に存在していることや、s-Themis-B2 は精巣で、v-Themis-B2 は卵巣で発現していることから、少なくともアロ認識に関わる必要条件是満たしている。

次に、この s/v-Themis-A, -B, -B2 の 3 ペアがアロ認識に関わるか否かを知る目的で、自殖 F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> 個体を用いて遺伝学的解析を行った。その結果、s/v-Themis-A と -B が同一アレルの組み合わせであっても、s/v-Themis-B2 のアレルが異なれば、非自己と認識されて受精することが判明した。同様に、s/v-Themis-A と -B2 が同一アレルであっても、s/v-Themis-B のアレルが異なれば、非自己と認識されて受精した。これらのことは、少なくとも s/v-Themis-B と -B2 はアロ認識に深く関わっていることを示している。また興味深いことに、s/v-Themis-B と -B2 が同一アレルで、s/v-Themis-A が異なる組み合わせにおいては、非自己と認識して受精する場合もあれば自己と認識して受精しない場合、さらに中間的な表現型を示すものも見られた。この結果は、s/v-Themis-A はアロ認識に関わるものの、s/v-Themis-B, -B2 の関与の方が大きいことを示唆している。

次いで、TALEN 法により s/v-Themis-A, -B/B2 の遺伝子を破壊した個体を作製し、その自家受精率を検討した。ここで s-Themis-B と B2 は、超可変領域以外は配列の相同性が非常に高いことから、B と B2 を区別して遺伝子破壊することは困難であり、同時破壊となる。受精卵に Themis の N 末端領域で TALE ヌクレアーゼによって切断されるようにデザインし、Themis 領域の特異的切断を試みた。

そしてこの受精卵を成体に育てて、放精抱卵を誘起し、得られた卵と精子を用いて受精実験を行った。その結果、自家受精可能な卵と精子を産生する個体が確認された。これらの結果は、s/v-Themis-A, B, B2 がアロ認識の責任遺伝子であることを明確に示している。

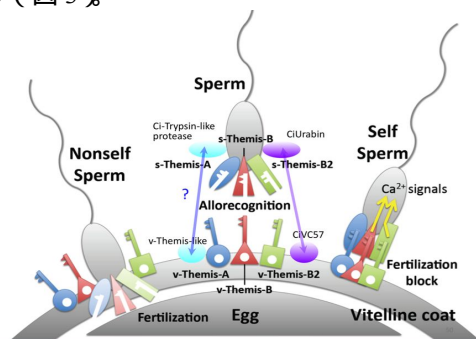
(2) Themis 遺伝子の対立遺伝子 (アレル) の多型解析: A と B に関して、アレル解析を行った。分子系統解析の結果、Themis-A と Themis-B は全く異なったクレードに分類され、分子進化的にも異なった分子であることが示された。また、分子系統樹を用いて各アレルの樹形解析を行ったところ、s-Themis-B と v-Themis-B は共進化していることが示唆された。一方、s-Themis-A と v-Themis-A に関しても、一部の例外を除き樹形が一致することから共進化していると考えられる。s/v-Themis-A の場合、遺伝学的解析から、アロ認識への関与が低いアレルも存在することが示されており、樹形が一致しない理由はそれに起因する可能性が考えられる。いずれにせよ、v-Themis と s-Themis のアレルの組み合わせが異なることはないので 1:1 対応していることは明らかである。このことから、パートナー分子であることは明らかであり、共進化していると考えられる。

(3) 自己認識後のシグナル伝達機構: s-Themis-B の C 末端にはカチオンチャンネルドメインが存在する。ホヤではカルシウムが精子の活性化や走化性に関わることが知られている。また、自己と非自己卵 (グリセリン処理卵) に精子を加えると、自己卵に結合した精子は運動性を低下させるか、卵黄膜から離脱する現象が見られたが、海水中のカルシウム濃度を低下させるとこの現象が抑制された。これらの結果を基に、s-Themis-B のカチオンチャンネルがカルシウムチャンネルとして自他認識に関わっている可能性を考えた。精子を単離卵黄膜に結合させ、精子細胞内でカルシウム濃度変化が起こるか否かを、ライブイメージング技術を用いて解析した。その結果、精子は自己卵由来の単離卵黄膜に結合すると、1 秒以内にカルシウム濃度の急激な上昇がおこること、非自己卵由来の卵黄膜に結合してもカルシウム濃度上昇は起こらないこと、海水のカルシウム濃度を低下させるとカルシウム濃度上昇は起こらなくなることが判明した。これらのことから、精子が自己卵の卵黄膜に結合すると精子細胞内へのカルシウム流入が起こり、卵黄膜から離脱することが示された (図 3)。

(4) Themis オルソログの探索と動植物共通のアロ認識機構: ゲノムデータが検索可能なカタユレイボヤ以外のホヤを用いて、s/v-Themis オルソログが存在するか否かを調べた。その結果、マボヤにおいては、ゲノム上には 3 つの s/v-Themis 遺伝子をコードする scaffold が存在することが判明した。その内の 2 つに関しては、v-Themis 遺伝子産物が卵黄膜上で検出されることから、アロ認識に関わ

る可能性も考えられる。マボヤでは卵黄膜の HrVC70 が多型に富むアロ認識分子であると考えているが、v-Themis もこの分子と相互作用している可能性もあり、今後に残された課題である。また、自家和合種という報告もあるユウレイボヤに関しては、実際には自家不和合性を示す。この種にも s/v-Themis-A と -B のオルソログが存在することが示された。しかし、多型が多いので、PCR で遺伝子を増幅することができず、詳細な解析は今後の課題である。なお、典型的は自家和合種である *Phallusia mammillata* では s/v-Themis のオルソログは発見されていない。これらのことも、s/v-Themis がアロ認識に関わる重要な責任因子であることを支持している。

v-Themis に構造が類似した v-Themis-like もカタユレイボヤ卵黄膜に存在することを確認した。この分子には多型が見られないが、自家不和合性を失う卵の酸処理により卵黄膜から離脱することから、自家不和合性への関与が考えられる。この分子は、精子の卵黄膜への結合をサポートし、s/v-Themis 間のアレル認識を補助している可能性が考えられる (図 3)。



##### 5. 主な発表論文等 (研究代表者には下線) (雑誌論文) (計 15 件) (以外査読有)

- Yamada, L., Saito, T., Taniguchi, H., Sawada, H., and Harada, Y. (2009). Comprehensive egg coat proteome of the ascidian *Ciona intestinalis* reveals gamete recognition molecules involved in self-sterility. *J. Biol. Chem.* 284, 9402-9410. doi: 10.1074/jbc.M809672200.
- Akasaka, M., Harada, Y., and Sawada, H. (2010). Vitellogenin C-terminal fragments participate in fertilization as egg-coat binding partners of sperm trypsin-like proteases in the ascidian *Halocynthia roretzi*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 392, 479-484. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.01.006.
- Yokota, N., Harada, Y., and Sawada, H. (2010). Identification of testis-specific ubiquitin-conjugating enzyme in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Reprod. Dev.* 77, 640-647. doi: 10.1002/mrd.21198.
- Yamaguchi, A., Saito, T., Yamada, L., Taniguchi, H., Harada, Y., and Sawada, H. (2011). Identification and localization of sperm CRISP family protein CiUrabin

involved in gamete interaction in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Reprod. Dev.*, 78, 488-497. doi: 10.1002/mrd.21329.

Yokota, H., Kataoka, Y., Hashii, N., Kawasaki, N., and Sawada, H. (2011). Sperm-specific C-terminal processing of the proteasome PSMA1/ $\alpha$ 6 subunit. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 410, 809-915. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.06.069.

Araki, Y., Shimizu, H.D., Saeki, K., Okamoto, M., Yamada, L., Ishida, K., Sawada, H., and Urushihara, H. (2012). A surface glycoprotein indispensable for gamete fusion in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Eukaryot. Cell* 11, 638-644. doi: 10.1128/EC.00028-12.

Kawai, N., Ochiai, H., Sakuma, T., Yamada, L., Sawada, H., Yamamoto, T., and Sasakura, Y. (2012). Efficient targeted mutagenesis of the chordate *Ciona intestinalis* genome with zinc-finger nuclease. *Dev. Growth Differ.* 54, 536-545. doi: 10.1111/j.1440-169X.2012.01355.x.

Saito, T., Shiba, T., Inaba, K., Yamada, L., and Sawada, H. (2012). Self-incompatibility response induced by calcium increase in sperm of the ascidian *Ciona intestinalis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 4158-4162. doi: 10.1073/pnas.1115086109.

Harada Y., and Sawada, H. (2013). Self-incompatibility in gamete recognition: Single self-recognition determinants and multiple, nonself-recognizing ones function in the same individual. *Mol. Reprod. Dev.* 80, 2-7. doi: 10.1002/mrd.22134.

Akasaka, M., Kato, K.H., Kitajima, K., and Sawada, H. (2013). Identification of novel isoforms of vitellogenin expressed in ascidian eggs. *J. Exp. Zool. (Part B, Mol. Dev. Evol.)*, 320, 118-128. doi: 10.1002/jez.b.22488.

Jin, Y., Yaguchi, S., Shiba, K., Yamada, L., Yaguchi, J., Shibata, D. Sawada, H., and Inaba, K. (2013). Glutathione transferase theta in apical ciliary tuft regulates mechanical reception and swimming behavior of sea urchin embryos. *Cytoskeleton*, 70(8), 453-70. doi: 10.1002/cm.21127.

Otsuka, K., Yamada, L., and Sawada H. (2013). cDNA cloning, localization and candidate binding partners of acid-extractable vitelline-coat protein Ci-v-Themis-like in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mol. Reprod. Dev.* 80, 840-848. doi: 10.1002/mrd.22213.

Yoshida, M. A., Yamada, L., Ochi, H., Iwata, H., Tamura-Nakano, M., Sawada H., Sauer, W. H., Ogura, A., and Hirohashi, M. (2014). Integrative omics analysis reveals differentially distributed proteins in dimorphic euspermatozoa of the squid, *Loligo bleekeri*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.076.

澤田均 (2014). 自家不和合性因子と  $Ca^{2+}$  シグナル、*細胞工学* 33, 406-408 .

Sawada H., Morita, M., and Iwano, M. (2014). Self/Non-self recognition mechanisms in sexual reproduction: New insight into the self-incompatibility system shared by flowering plants and hermaphroditic animals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.05.099.

[学会発表](関連する招待講演)(計24件)

Sawada, H., Allogeneic authentication mechanisms during ascidian fertilization. Gordon Research Conferences "Fertilization and activation of development", 2009年7月12-17日、Plymouth, NH, U.S.A.

澤田均、原索動物ホヤ類におけるアロ認識機構、日本生化学会、2009年10月23日、神戸。

澤田均、ホヤの受精におけるアロ認識機構、日本分子生物学会、2009年12月10日、横浜。

Sawada, H., Allorecognition systems in protochordate fertilization. International Symposium "Intercellular recognition and allogeneic authentication: Perspectives of reproduction mechanisms shared by animals and plants", 2010年1月14日、名古屋。

Sawada, H., Self-incompatibility systems in fertilization of hermaphroditic protochordates: The reproduction mechanisms shared by animals and plants. International symposium of cell-cell communication plant reproduction from pollination in fertilization, 2010年3月11-12日、奈良。

Sawada, H., Allorecognition mechanisms in ascidian fertilization: A preproduction strategy shared with flowering plants. 11<sup>th</sup> International Symposium on Spermatology, 2010年6月24-29日、沖縄

澤田均。動植物共通のアロ認証機構とホヤにおけるアロ認識機構、日本動物学会、2010年9月24日、東京。

Sawada, H., Allorecognition mechanisms during ascidian fertilization: the shared reproductive strategy shared with animals and plants. 日本生化学会・日本分子生物学会・合同大会、2010年12月7日、神戸。

Sawada, H. Self-sterile mechanisms in hermaphroditic marine primitive chordates (Ascidians). BIT's 1<sup>st</sup> Annual Congress of Marine Biotechnology, 2011年4月25-29日、大連、中国。

澤田均。ホヤの受精機構：雌雄同体なのになぜ自家受精しないのか、公開講演会「動物と植物の生殖のしくみ：その不思議な世界」、2011年6月4日、名古屋。

Sawada, H., Self-nonsel- recognition mechanisms during ascidian fertilization:

Allelic polymorphisms of s/v-Themis-A and s/-Themis-B and a novel allorecognition pair s/v-Themis-C in *Ciona intestinalis*. 6<sup>th</sup> Tunicate Meeting, 2011年7月3-7日、Montreal.

Sawada, H., Ubiquitin-proteasome system involved in fertilization of ascidians and sea urchins. Mini-symposium: Post-translational Modification in Gametes, Embryos, and the Reproductive System "Reproduction and World's Future", 44<sup>th</sup> SSR meeting, 2011年7月31-8月4日、Portland, Oregon, U.S.A.

澤田均. 原索動物ホヤ類における自己と非自己の配偶子認識機構、日本比較免疫学会、2011年8月21-23日、横浜

澤田均、齋藤貴子、山口顕、柴小菊、稲葉一男、山田力志、ホヤの受精における自家不和合性：動植物に共通するアロ認識機構とカルシウムシグナル、日本植物学会、2011年9月17-19日、東京

澤田均. ホヤの受精におけるアロ認識分子とその細胞応答、第9回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム、2011年11月24-25日、名古屋

澤田均. カタコウレイボヤにおける自家不和合性応答. 日本顕微鏡学会、2012年5月14-16日、つくば

澤田均. ホヤって何? ホヤの受精研究に魅せられて、第25回名大カフェ Science and Me、2012年8月8日、名古屋

Sawada, H., Ascidian fertilization: Allorecognition and lysin systems. International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animals and Plants, 2012年11月12-16日、名古屋

Sawada, H., Glycoproteins involved in ascidian fertilization: sperm and egg-coat glycoproteins responsible for self/nonself-recognition and gamete-recognition, 2013年7月5日、名古屋

Sawada, H., Self-sterile mechanisms in an ascidian (primitive chordate) *Ciona intestinalis*: Its reproductive tactics shared with flowering plants. Gordon Research Conferences "Fertilization and Activation of Development", 2013年7月14-19日、Plymouth, U.S.A

① Sawada, H., Mechanisms of self-incompatibility in the ascidian *Ciona intestinalis*. 7<sup>th</sup> Tunicate Meeting, 2013年7月22-26日、Naples.

② Sawada, H., Ascidian reproductive tactics: From basic biology to applications. 4<sup>th</sup> International Conference Green Technology, 2013年11月9日、Malang, Indonesia.

③ 澤田均、動物と植物の生殖のはなし。「名古屋大学オープンレクチャー2013」, 2013年9月23日、名古屋

④ 澤田均. ホヤのアロ認識機構からみた動植物共通の生殖タクティクス、日本分子生物学会、2013年12月3-6日

〔図書〕(計6冊)

Sawada, H., Saito, T., Yamaguchi, A., Harada, Y., and Yamada, L. (2012). Allorecognition mechanisms in ascidian fertilization: A reproduction strategy shared with flowering plants. In "*Sperm Cell Research in the 21st Century: Historical Discoveries to New Horizons*" M. Morisawa (ed.), Adhree Publishing Co, pp. 202-207.

Sawada, H., Yamamoto, K., Otsuka, K., Saito, T., Yamaguchi, A., Mino, M., Akasaka, M., Harada, Y., and Yamada, L. (2014). Allorecognition and lysis systems during ascidian fertilization. In "*Sexual Reproduction in Animals and Plants*", H. Sawada, N. Inoue, M. Iwano (eds.), Springer, pp. 231-244.

Akasaka, M., Kato, K. H., Kitajima, K., Sawada, H. (2014). Novel isoform of vitellogenin expressed in eggs is a binding partner of the sperm proteases, HrProacrosin and HrSpermosin, in the ascidian, *Halocynthia roretzi*. In "*Sexual Reproduction in Animals and Plants*", H. Sawada, N. Inoue, M. Iwano (eds.), Springer, pp. 131-139.

澤田均、岩野恵 (2014). 動物と植物の受精機構—その多様性と共通性、**動物の受精学**、化学同人、pp.15-31.

澤田均、笹倉靖徳、山田力志 (2014) 原索動物(ホヤ)の受精、**動物の受精学**、化学同人、pp.167-184.

Sawada, H., M. Mino, and M. Akasaka (2014). Sperm proteases and extracellular ubiquitin-proteasome system involved in fertilization of ascidians and sea urchins. In: "*Post-translational Protein Modification in the Reproductive System*" P. Sutovsky (ed.), Springer, in press.

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ:

領域: <http://allo-authentication.net>

研究室: <http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~SugashimaMBL/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤田均 (SAWADA, Hitoshi)

研究者番号: 60158946

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし